

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-320630

(P2002-320630A)

(43) 公開日 平成14年11月5日 (2002.11.5)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームコード* (参考)
A 6 1 F 2/06		A 6 1 F 2/06	4 C 0 9 7
2/02		2/02	
2/04		2/04	
2/08		2/08	

審査請求 未請求 請求項の数16 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2001-129130(P2001-129130)

(22) 出願日 平成13年4月26日 (2001.4.26)

(71) 出願人 000135036

ニプロ株式会社

大阪府大阪市北区本庄西3丁目9番3号

(71) 出願人 598167040

上田 実

愛知県日進市岩崎台2-415

(72) 発明者 土居 伸年

大阪市北区本庄西3丁目9番3号 ニプロ  
株式会社内

(74) 代理人 100088904

弁理士 庄司 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体組織または器官再生用器具

(57) 【要約】

【課題】従来の神経または血管移植用チューブに代えて、体内への異物残留の問題および空隙の問題がなく、管状体の内部に神経または血管などが容易に挿入し、細胞が効率よく、三次元的に増殖していくことが可能である生体組織または器官再生用器具を提供する。

【解決手段】生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体 (A) が、生体分解性材料または生体吸収性材料で形成されたスポンジ状の微細なマトリックス (B) および直線状の生体組織または器官誘導経路 (C) を備えていることを特徴とする生体組織または器官再生用器具。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体(A)が、生体分解性材料または生体吸収性材料で形成されたスポンジ状の微細なマトリックス(B)および直線状の生体組織または器官誘導経路(C)を備えてなることを特徴とする生体組織または器官再生用器具。

【請求項2】 前記生体分解性材料が、生体内の分解酵素、酸またはアルカリにより分解する材料であって、タンパク質、ポリペプチドまたはそれらの誘導体であることを特徴とする請求項1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項3】 前記生体吸収性材料が、体液の浸透を許容する多孔質物質であり、タンパク質、ポリペプチド、またはそれらの誘導体、多糖類またはそれらの誘導体、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、グリコール酸と乳酸の共重合体、乳酸と $\epsilon$ -アミノカプロン酸の共重合体または脂肪族ポリエステルであることを特徴とする請求項1または2に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項4】 前記生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体(A)が、管状体であることを特徴とする請求項1～3のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項5】 前記生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体(A)が、繊維性材料で構成された管状体であることを特徴とする請求項1～4のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項6】 前記繊維性材料が、短繊維、長繊維、糸状体、綿状体、編織布、または不織布であることを特徴とする請求項5に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項7】 前記微細なスポンジ状の微細なマトリックス(B)が、コラーゲンスポンジ層であることを特徴とする請求項1～6のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項8】 前記直線状の生体組織または器官誘導経路(C)が、少なくとも1本以上の繊維からなり、前記支持体(A)の内部に長軸方向に挿入されて形成されたものであることを特徴とする請求項1～7のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項9】 前記直線状の生体組織または器官誘導経路(C)が、少なくとも1つの管状構造体であり、前記支持体(A)の内部に長軸方向に形成されたものであることを特徴とする請求項1～7のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項10】 前記直線状の生体組織または器官誘導経路(C)が、前記スポンジ状の微細なマトリックス(B)中に埋胞されていることを特徴とする請求項1～9のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項11】 前記支持体(A)がコラーゲン繊維が集束した管状体であり、前記スポンジ状の微細なマトリックス(B)が該管状体内部に設けられたコラーゲンスポンジ層であり、前記直線状の生体組織または器官誘導経路(C)が、前記コラーゲンスポンジ層を貫通した繊維または管状構造体であることを特徴とする請求項1～10のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項12】 前記生体組織または器官は、ヒト霊長類、非ヒト霊長類または齧歯類動物の血管、気管、食道、腸管、腱(靱帯)または神経であることを特徴とする請求項1～11のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項13】 繊維径が約5～1000 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を集束した外径約0.1～50mmおよび内径約0.05～40mmである管状体(a)の内部に、空隙率が約70～99.9%である微細なコラーゲンスポンジ層(b)を備え、さらに該スポンジ層(b)を貫通して前記管状体(a)の内部長軸方向に設けられた少なくとも1つの直線状構造体(c)を有することを特徴とする生体組織または器官再生用器具。

【請求項14】 前記直線状構造体が、繊維径約5～1000 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を少なくとも1本集積したものであることを特徴とする請求項13に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項15】 前記直線状構造体が、孔径約5～1000 $\mu$ mである管状の連通路を少なくとも1ヶ所設けることを特徴とする請求項13または14に記載の生体組織または器官再生用器具。

【請求項16】 末梢神経再生誘導路または脊椎神経再生誘導路であることを特徴とする請求項1～15のいずれか1に記載の生体組織または器官再生用器具。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明が属する技術分野】本発明は、生体組織または器官再生用器具に関し、さらに詳細には、病変、損傷のために切断したヒト組織または器官、例えば神経繊維、微細血管などを再生するための器具に関する。

## 【0002】

【従来の技術】事故や災害あるいは疾患により、ヒトの神経、腱などの組織または器官が損傷し、自己の回復力により損傷部を治癒できない場合には、知覚、感覚、運動能力等に障害が発生している。このような患者に対して、近年の顕微鏡下で損傷部位を接続する技術の発展にともない、切断された部位を接続する外科縫合手術や、自己の神経・腱などを他の部位から採取し、移植することにより失われた機能を回復する自己神経移植などの治療が効果をあげている。

【0003】しかしながら、欠損した領域が大きすぎる場合は上記接続による修復は不可能であり、ある程度の障害が発生してもその損傷部分の障害よりも重要度が低

いと思われる他の部分から神経を採取し、損傷部位へ移植することが必要であった。このような場合、最初に発生した部位の障害よりも重要度が低いとはいえ、損傷を受けていない健全な他の部分の神経を採取するので、その部位には知覚、感覚、運動能力などの障害を発生させることになる。

【0004】自己神経移植の一例として、まず腓腹神経を採取し、損傷部分に該神経の移植を行うことが挙げられるが、通常、足首から足の甲部分の皮膚感覚等が消失することが問題であった。そこで、他の部分（足首など）に支障を来すことなく、損傷部分の修復が可能な治療方法が切望されている。

【0005】自己神経移植の弊害を克服するために、損傷部位を人工器具で置き換えることにより、もとの機能を回復しようとして、種々の研究がなされている。例えば、ヒト体内に吸収されない非吸収性材料（珪素化合物、フッ素化合物および各種合成ポリマー）で作られた管状体（被覆材ともいう）で神経の断裂部分を覆い、管状体内部で切断された神経から新しい神経細胞が成長、増殖し、この切断された神経が再度接合することを期待したものがある（Ducker et al., *Journal of Neurosurgery*, 28, 582~587 (1968); Midgler et al., *Surgical Forum*, 19, 519~528 (1968); Lundborg et al., *Journal of Neuropathology in Experimental Neurology*, 41, 412~422 (1982); Molander et al., *Muscle & Nerve*, 5, 54~58 (1982); Uzman et al., *Journal of Neuroscience Research*, 9, 325~338 (1983); Nyilas et al., *Transactions American Society of Artificial Internal Organs*, 29, 307~313 (1983); USP4534349号等）。これらの実験では、切断された神経の両端部から若干の細胞増殖は見られるが、切断した神経が再度接合して回復するには至っていない。これは、細胞が増殖する場合、一般的に管状体の足場に付着し、そこから切断部分を埋める方向に増殖して行くが、切断部分を覆うのみでは切断端の間に空隙があり、その部分を全て埋め尽くすまでの間に細胞の増殖が止まるため、切断された間隙を再度修復するには至らなかったのである。

【0006】また、植え込まれた管状体（被覆材ともいう）は人工的に合成されたものであるから、永久に体内に異物が存在することとなり、好ましくない。そこで、異物が残留する問題について、該管状体を生体吸収性材料に置き換えた例も存在している（Suzuki et al., *Artificial Organs*, 27(2), 490~494 (1998)）。この管状体を生体吸収性材料とすることにより、異物が体内に残留し続けるという問題は解決されと考えられるが、依然として、空隙の問題は残り、細胞が増殖して欠損部分を修復することは困難であった。

【0007】さらに、生体吸収性材料の管状体内部にある空隙の問題を解決するために、コラーゲンの繊維束を挿入し、フィブロネクチン（FN）でコーティングして

いるものがある（特開平5-237139号公報、島田ひろき等、人工臓器22(2), 359-363, 1993）。この場合は、体内への異物残留の問題および空隙の問題を解決できると考えられるが、依然として次の問題が残っている。すなわち、コラーゲン繊維束は細く、切れやすいために取り扱いが難しく、管状体の内部を完全に充填するように挿入することが難しい。また、挿入することを容易にするために繊維束の充填量を少なくすると、繊維間の空隙が広がる、うまく繊維束を固定できない、管状体の内部で繊維束の偏りが発生するなどの弊害が生じる。したがって、どちらの場合も内部の空隙が広がるので、前記の空隙が大きい場合と同じことになるために好ましくない。

【0008】また、繊維束の充填量を増やした場合でも、なお、他の問題が残っている。すなわち、管状体の内部にそれ自体の偏りが起きないようにコラーゲン繊維を充填した場合は、管状体内空の充填率は上がるが、細胞が増殖するスペースを狭くしてしまう。さらに、細胞が効率よく増殖していくためには、細胞が必要とする栄養分を速やかに補給し、代謝して発生した老廃物を速やかに除去してやる必要がある。しかし、繊維束が高い充填密度で挿入されている場合は、繊維束中心部に近くなるほど物資の交換が阻害されるために、細胞が増殖するのに適した環境になっていないといえず、細胞を増殖させて神経を修復するには適していない。

【0009】また、より効率よく細胞を増殖させるための手段として、管状体に細胞の成長因子を封入したものも報告されており（USP4,963,146）、また該内腔表面にフィブリノーゲン、フィブロネクチンなどをコーティングしたもの（Non-toxic Nerve Guide Tubes Support Neovascular Growth in Transected Rat Optic Nerve, R. Madison et al., *Experimental Neurology*, 86(3):448-461, 1984）、さらに内腔に充填した繊維にラミニンをコーティングしたもの（特開平5-237139号公報、島田ひろき等、人工臓器22(2), 359-363, 1993）などが知られている。しかしながら、内腔面に成長因子などをコーティングした場合では表面積に限りがあり、また、細胞は三次元的に増殖していくために細胞成長因子がコーティングされた壁面から離れた細胞にまで行き渡らなくなる。また、内腔に充填した繊維にコーティングした場合でも、内腔表面積よりコーティング面積は広がるが、充填された繊維の容積があるために、内腔容積に対する細胞因子の量は減少してしまう。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、従来の神経または血管移植用チューブに代えて、体内への異物残留の問題および空隙の問題がなく、管状体の内部に神経または血管などが容易に挿入され、細胞が効率よく、三次元的に増殖していくことが可能である生体組織または器官再生用器具を提供することにある。

# 【0011】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記事情を考慮して、種々鋭意検討したところ、生体吸収性材料または生体分解性材料の管状体の内腔にスポンジ状の微細なマトリックスを形成し、さらに、該管状体内部の空隙部分に細胞が再生する足場として、適切な密度を持たせると共に、その該スポンジ状の微細なマトリックスがもつ多孔質体の特性から周囲の細胞が分泌する、または人為的に注入された種々の成長因子を保持することが可能となり、種々の細胞、例えば神経細胞の増殖効率を高めることを見出した。また、該スポンジ状の微細なマトリックスに、再生していく細胞類の成長に方向性をあたえ、該成長を誘導していくための直線状の構造体を形成することにより、欠損した組織または器官の間で再生していく細胞が、目的とする相手の組織と接合する時間を短縮し、その結果として、速やかに生体組織または器官の再生が行われ、かつ生体吸収性が良く、生体内に残留異物を残さない生体組織または器官再生用器具を完成した。

【0012】すなわち、本発明は生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体（A）が、生体分解性材料または生体吸収性材料で形成されたスポンジ状の微細なマトリックス（B）および直線状の生体組織または器官誘導経路（C）を備えてなることを特徴とする生体組織または器官再生用器具である。

# 【0013】

【発明の実施の形態】本発明における生体組織または器官とは、ヒト霊長類、非ヒト霊長類または齧歯類動物の血管、気管、食道、腸管、腱（靱帯）、または神経などが例示される。本発明の組織としては、特に末梢神経または脊髄神経などのヒト神経が好ましい。

【0014】本発明において、生体分解性材料または生体吸収性材料で形成された支持体（A）とは、管状体（中空体を含む）、平板、曲板などの形状を有する成形品であるが、再生すべき生体組織または器官に応じて種々選択される。特に、管状体は周囲にある組織の浸潤から生体組織または器官が再生する空間を確保する役割を果たす。本発明の支持体（A）としては、管状体（中空体を含む）、板状体、ゲルなどの形状を有し、生体分解性または生体吸収性材料からなる繊維性材料で構成された管状体、ステントなどが好ましい。該繊維性材料は、短繊維、長繊維、糸状体、綿状体、編織布、不織布などが例示される。該繊維性材料の繊維径は約5～1000 $\mu$ m、好ましくは10～100 $\mu$ mである。特に繊維間の間隙が0～200 $\mu$ m、好ましくは0～100 $\mu$ mである支持体（A）が好ましい。

【0015】本発明の生体分解性材料とは、生体内の分解酵素、酸またはアルカリにより分解する材料であって、体液の浸透を許容する多孔質であることが特徴であり、例えば、コラーゲン、ゼラチンなどのタンパク質、

ポリペプチド、またはそれらの誘導体が挙げられる。また、生体吸収性材料とは、体液の浸透を許容する多孔質物質であり、例えば、タンパク質、ポリペプチド、またはそれらの誘導体、多糖類またはそれらの誘導体、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、グリコール酸と乳酸の共重合体、乳酸と $\epsilon$ -アミノカプロン酸の共重合体、またはラクチド重合体などの脂肪族ポリエステル（特2939750号公報参照）が挙げられる。本発明に使用されるコラーゲンとしては、その由来は特に限定されないが、一般的には、牛、豚、鳥類、魚類、霊長類、兎、羊、鼠、人などが挙げられる。また、コラーゲンはこれらの皮膚、腱、骨、軟骨、臓器などから公知の各種抽出方法により得られるものであるが、これらの特定の部位に限定されるものではない。さらに、本発明に利用されるコラーゲンのタイプについては、特定の分類可能な型に限定されるものではないが、取扱い上の観点から、I、III、IV型が好適である。これらの材料から支持体（A）を製造するには常法に従う。

【0016】本発明の生体組織または器官を再生する補助手段の1つは、スポンジ状の微細なマトリックス（B）であり、例えば、コラーゲンスポンジ層、コラーゲン繊維などから構成される。微細なスポンジ状のマトリックス（B）は、その内部で再生する生体組織または器官の細胞に対して適切な密度と足場をあたえる。また、コラーゲン繊維から構成された短繊維、綿状体、不織布なども同様な効果が期待される。さらに、他の補助手段は直線状の誘導経路（C）であり、再生する細胞に成長する方向性をあたえて、目的とする組織または器官まで接合する時間を短縮することができる。このような誘導経路（C）は、具体的には多数の長繊維、糸状体、織布、編物などで構成されるか、あるいは中空の管状構造体である。中空の管状構造体は、スポンジ状のマトリックス（B）の成形中に基材を挿入しておいて、成形後に基材を取り除くことによって形成され得る。

【0017】本発明の生体組織または器官再生用器具の具体的な例としては、支持体（A）が生体分解性材料または生体吸収性材料からなる管状体であり、該中空内の内部に前記補助手段として微細なマトリックス（B）と直線状の誘導経路（C）が設けられたものが挙げられる。該管状体（A）は、コラーゲン繊維が集束した成形品であり、該中空内部にコラーゲンスポンジ層（B）と該スポンジ層を貫通するようにコラーゲン繊維を挿入、もしくは管状の連通路（C）が設けられていることが好ましい。

【0018】本発明の生体組織または器官再生用器具の一例としては、繊維径が約5～1000 $\mu$ m、好ましくは10～100 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を集束した、外径約0.1～50mm、好ましくは0.5～25mmおよび内径約0.05～40mm、好ましくは0.3～20mmである管状体（a）の内部表面に、コラーゲン

スポンジ層 (b) を備え、かつ、スポンジ層を中空体の長手方向に貫通するようにコラーゲン繊維を挿入、もしくは管状の連通路 (c) が形成されてなる末梢神経再生誘導路または脊椎神経再生誘導路を有する。

【0019】上記器具としては、コラーゲンスポンジ層 (b) は空隙率が約70～99.9%、好ましくは80～99%であり、このコラーゲンスポンジ層 (b) は、長手方向に貫通するように直線状の誘導経路 (c) を少なくとも1つ有していてもよい。前記直線状誘導経路 (c) は、コラーゲン繊維、もしくは管状の連通路から成り、コラーゲン繊維であれば、直径約5～1000 $\mu$ m、好ましくは10～100 $\mu$ mであり、前記管状体 (a) の内部容積に対して、5～70%、好ましくは10～60%に相当する量が挿入されていることが好適であり、直線状の連通路 (c) であれば、直径5～1000 $\mu$ m、好ましくは10～100 $\mu$ mであり、前記管状体 (a) の内部容積に対して、5～70%、さらに好ましくは10～60%を占める容積であることが好適である。

【0020】本発明の一実施態様は、繊維径が約10～100 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を集束した、外径約0.5～20mmおよび内径約0.3～15mmである管状体 (a) の内部に、空隙率が約70～99.9%である微細なコラーゲンスポンジ層 (b) を備え、さらに該スポンジ層 (b) を貫通して前記管状体 (a) の内部長軸方向に設けられた直線状構造体 (c) を少なくとも1つ有する生体組織または器官再生用器具である。

【0021】また、本発明の別な実施態様は、繊維径が約10～100 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を集束した、外径約0.5～20mmおよび内径約0.3～10mmである管状体 (a') の内部に、空隙率が約70～99.9%であるコラーゲンスポンジ層 (b') と、そのスポンジ層を貫通するように直線状の誘導経路 (c') として、直径5～1000 $\mu$ mのコラーゲン繊維を内腔部分の5～70%の容積に相当する量を挿入し、もしくは、該スポンジ層を貫通するように直径5～1000 $\mu$ mの管状構造体を内腔部分の5～70%の容積で形成してなる、末梢神経再生誘導路または脊椎神経再生誘導路を有する生体組織または器官再生用器具である。

【0022】さらに、本発明の一実施態様は、繊維径が約10～100 $\mu$ mであるコラーゲン繊維を集束した外径約0.5～20mmおよび内径約0.3～10mmである管状体 (a'') の内部に、空隙率が約70～99.9%であるコラーゲンスポンジ層 (b'') を備え、かつ、該スポンジ層を貫通するように、直線状の誘導経路 (c'') として、直径10～100 $\mu$ mのコラーゲン繊維を内腔部分の10～60%の容積に相当する量を挿入し、もしくは、該スポンジ層を貫通するように直径10～1000 $\mu$ mの管状構造体を内腔部分の10～60%の容積で備えてなる末梢神経再生誘導路または脊椎神経

再生誘導路を有する生体組織または器官再生用器具である。

【0023】本発明の器具は、管状体の両端に神経を挿入する空隙部を有することが好ましい。

【0024】本発明の器具の製造法について以下に詳述する。まず、生体分解性材料または生体吸収性材料、例えばコラーゲンの溶液から常法に準じ、繊維状材料、例えば短繊維、長繊維、糸状体、綿状体、編織布、不織布などを作成し、該材料から管状体を製造する。コラーゲンを溶解する溶媒は、既知のいかなる物質を用いても良いが、常法に準じて水を使用することが好ましい。コラーゲン溶液濃度は、0.1～30wt%であり、好ましくは0.5～10wt%である。コラーゲン繊維を製造するための押出成形法としては、特に制限されないが、通常、凝固浴はエチルアルコールであり、押出速度は約100～500mm/秒である。凝固浴から取り出した繊維の冷却は、コラーゲンの変性が起きる約40℃付近以下であれば良いが、好ましくは4℃～20℃に保つ。該繊維径は約10 $\mu$ m～100 $\mu$ mであることが好ましい。

【0025】上記繊維性材料から支持体 (A)、例えば管状体 (中空体を含む) などを作製するには、例えば、コラーゲン溶液を紡糸した連続繊維を、一定長さを有する板状基材に巻取ることにより、繊維方向が一定な連続した繊維束を得ることができる。該板状基材を取り除くことによって繊維束は中空な管状体を形成する。該管状体を末梢神経または脊椎神経などの神経の修復または再生のために用いる場合、好ましくは、該管状体の管壁の厚さは、約0.1mm～5mmの範囲が適しており、外径は約0.3～20mm、内径 (内腔) は約0.1～10mmおよび長さは任意である。内腔部分の直径は接続される神経の直径に依存するが、特に約0.5mm～10mmの範囲が適している。

【0026】支持体 (A) である管状体の内腔部分に生体組織または器官を再生するための補助手段を設けるには、次のような方法がある。例えば、管状体の内腔部分に充填された微細なスポンジ状マトリックス (B) は、コラーゲン溶液を支持体の内腔部分に注入し、自然乾燥、真空乾燥、凍結真空乾燥などの方法により形成させる。コラーゲン溶液を充填後に凍結し、真空にて乾燥する凍結真空乾燥法で形成することが、微細なスポンジ状マトリックス (B) を均一に形成する上で好ましい。該コラーゲン溶液の濃度は0.05～30%である。また、乾燥条件は、コラーゲン溶液が凍結した後、約0.08 Torr以下の真空に保つことが好ましい。

【0027】微細なスポンジ状マトリックス (B) とは、目視判定あるいは顕微鏡下に観察して、均一もしくは不均一な大きさの多数の空隙を有する区画が連続または不連続に分散した多孔質を構成した状態をいう。該内腔に形成するスポンジ層のマトリックスは、使用するコ

ラーゲン溶液のコラーゲン濃度を变化させ、コラーゲン濃度の高いものから、順次、コラーゲン濃度を少ないものを充填する。充填するコラーゲン溶液の濃度を調整することにより、空隙が異なる層を有するマトリックスを得ることができ、用途に応じた種々の形態のものを形成することができる。管状体内腔の容積に対する、充填されたコラーゲン重量の割合を、充填率として表した場合、約0.05～30%が好ましく、さらに好適な充填率は、約0.5～15%である。

【0028】本発明の生体組織または器官の再生用器具は、生体内で損傷した組織または器官に常法に従って縫合し、生体内で自然に治癒するまで放置する。縫合手段は通常の生体用縫合糸でもって所定の組織および器具と縫合するものである。切断された神経の場合には、管状体(A)の末端にて複数箇所を切断された神経端と縫合することのみで神経の再生が見られる。

【0029】

【実施例】次に本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0030】

【実施例1】(生体組織または器官再生用器具の作製) 酵素可溶化コラーゲン(コラーゲンI型およびIII型の混合物)を水に溶解して5%水溶液を作製し、常法に準じて凝固浴中に押出すことにより、直径50 $\mu$ mのコラーゲン繊維を作製した。得られたコラーゲン繊維を金属製心棒に巻きつけて内径1mm、肉厚0.5mmのコラーゲン製の管状体を作製した。その内腔に直径50 $\mu$ mのコラーゲン繊維200本を5%コラーゲン溶液とともに同時に挿入し、急速冷凍した後に真空凍結乾燥を行って、内腔部分におけるコラーゲン繊維の充填率50%であり、各繊維の周囲を空隙率95%のコラーゲン製多孔質体が覆う構造を持つ、全体がコラーゲンから成る管状の生体組織または器官再生用器具を作製した。図1は上記再生用器具の一部断面図である。図2は該器具の側面図であり、図3は該器具の拡大図である。図1において、①はコラーゲン支持体、②はコラーゲン繊維、③はコラーゲンスポンジ層を示す。

【0031】(組織再生実験) 作製した上記再生用器具を用いてラットの組織再生実験を実施した。再生する組織としてはラット末梢神経を選択した。ラット腓骨神経を切断して10mmの欠損部分を作製した。この部位に予め欠損長と同じ10mmに切断し、25kGyの $\gamma$ 線滅菌処理を行った前記チューブ状のコラーゲン製器官再生用器具を挿入し、その両端を神経の切断端に10-0ポリアミド系縫合糸により複数箇所縫合固定した(図4)。また、対象群として別のラット群に対し、腓骨神経部分に同じく10mmの欠損を作製し、そのまま創傷部位を上記縫合糸にて縫合した。

【0032】(実験結果) 埋植後、経時的な神経の快復を評価するための足跡評価と、12週目に埋植部分の組

織を切りだして、Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) の免疫組織染色による神経繊維再生の確認を行った。足跡の評価方法は、WTA法(Walking Tracks Analyses)により評価した。すなわち腓骨神経を切断した場合は、ラットが爪先立ちして歩けなくなることから、足跡を記録した場合、神経を切断した側の足跡は、神経が正常な側の足跡と比較して長くなる。一方、健常側足跡長をX、神経麻痺側足跡長をYとして、 $[WTA値 = (Y - X) / Y]$  の式よりWTA値を求め、経時的な歩行機能の回復を評価した。その結果を図5に示す。図5から明らかなように、本発明による組織再生用器具を使用したラットの群では、第1週目のWTA値を100とした場合、2～3週目にかけて急速にWTA値は低下している。これに対して使用していない群では殆ど回復傾向が見られていない。すなわち、組織再生用器具の使用群では急速に神経切断側足の爪先立ちが可能になってきている事が確認でき、これは、神経の回復を示すものである。

【0033】次に、両群のラットから、施術後12週目の時点で神経切断部位を切りだし、免疫組織染色による神経繊維再生の確認を行った。その結果を図6および7に示す。図6から明らかなように、組織再生用器具を使用した群では繊維状に再生された神経が染色されており、切断された神経が組織再生用器具内部で効果的に再生されたことが確認できる。これに対して、図7から明らかなように、組織再生用器具を使用していない群では、周囲の繊維性組織の浸潤により繊維状の神経が再生されていない事が確認できる。また、図8は組織再生用器具を埋植した部分の末梢端側の組織を染色した結果を示す図面であるが、図中、A-A間より右側の部分で、組織再生用器具より末梢側方向に向けて神経組織が再生している様子が確認できる。

【0034】

【発明の効果】本発明の生体組織または器官再生用器具は、迅速かつ確実に目的の組織または器官を再生し、修復することが可能であり、また、この再生用器具を構成する物質の総てにおいて、コラーゲンで構成する場合には、生体適合性が良く、かつ、生体吸収性素材であるので組織を修復した後は生体に吸収され、異物として残留しないという優れた効果を持つ。なお、本発明の実施例に於いては末梢神経の再生に本組織再生用器具を使用しているが、中枢神経系、靱帯、腱など、種々の組織や器官の再生を行う場合にも有用である。本発明にかかる器具を使用すれば、再生していく細胞に対し、内部の繊維質の構造は成長の足場と共に、成長の方向性をあたえることで、短期間に再生することが可能となる。したがって、本発明は神経の再生のみならず、他の組織や器官を再生する場合にも優れた効果を発揮する。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の生体組織または器官再生用器具の模式

図である。

【図2】本発明の実施例1の生体組織または器官再生用器具を示す図面に代わる写真である。

【図3】本発明の生体組織または器官再生用器具の断面を示す図面に代わる拡大写真である。

【図4】本発明の生体組織または器官再生用器具の埋植部位を示す図面に代わる写真である。

【図5】本発明の生体組織または器官再生用器具の歩行

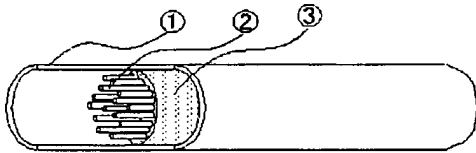
機能評価結果を示す図面である。

【図6】本発明の再生用器具埋植部分の12週目組織染色像を示す図面に代わる写真である。

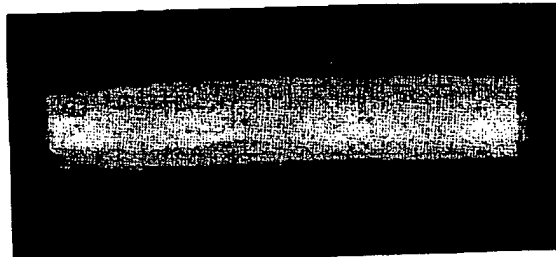
【図7】本発明の再生用器具の対象群施術部分の12週目組織染色像を示す図面に代わる写真である。

【図8】本発明の器官再生用器具埋置換部分および置換部分以降の末梢側組織の12週目組織染色像を示す図面に代わる写真である。

【図1】



【図2】



【図3】



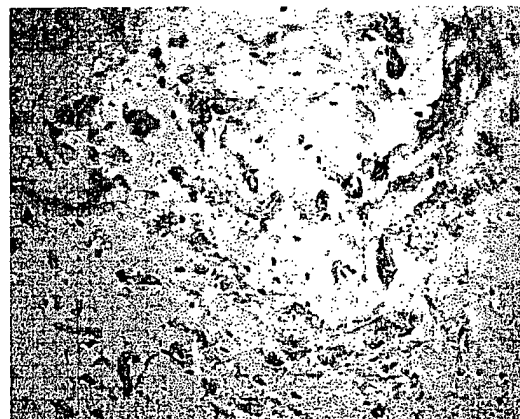
【図6】



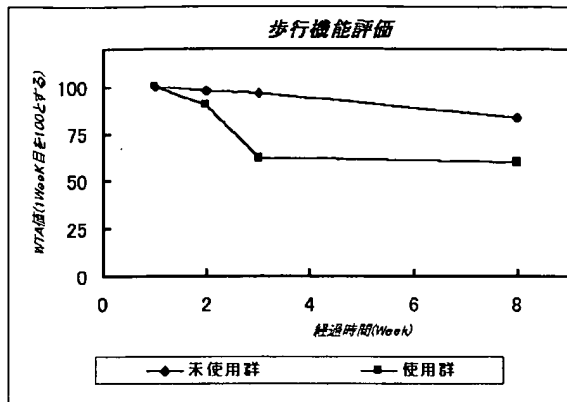
【図4】



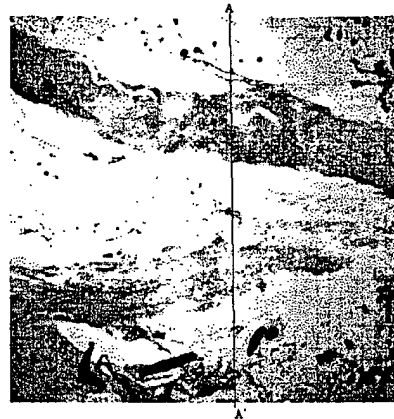
【図7】



【図5】



【図8】







フロントページの続き

(72)発明者 松田 和久  
 大阪市北区本庄西3丁目9番3号 ニプロ  
 株式会社内  
 (72)発明者 畠 賢一郎  
 愛知県刈谷市板倉町2-10-3 サンビレ  
 ッジ板倉102

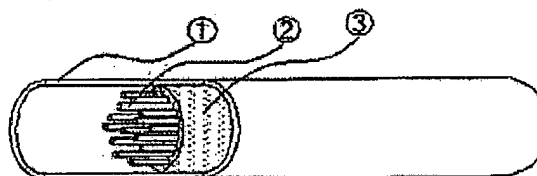
(72)発明者 坂井 謙介  
 名古屋市昭和区滝川町122-1 ライオン  
 ズマンション枳中ガーデンB棟503号  
 Fターム(参考) 4C097 AA14 AA15 AA17 AA18 AA20  
 AA21 BB01 BB10 CC01 DD01  
 DD05 DD11 DD13 DD14 EE08  
 EE18 EE19 FF01



**SOMATIC TISSUE OR ORGAN REPRODUCTION EQUIPMENT****Publication number:** JP2002320630**Publication date:** 2002-11-05**Inventor:** DOI NOBUTOSHI; MATSUDA KAZUHISA; HATAKE  
KENICHIRO; SAKAI KENSUKE**Applicant:** NIPRO CORP; UEDA MINORU**Classification:****- international:** A61F2/06; A61F2/02; A61F2/04; A61F2/08; A61L27/48;  
A61L31/12; A61F2/06; A61F2/02; A61F2/04; A61F2/08;  
A61L27/00; A61L31/12; (IPC1-7): A61F2/06; A61F2/02;  
A61F2/04; A61F2/08**- European:** A61L27/48; A61L31/12D10**Application number:** JP20010129130 20010426**Priority number(s):** JP20010129130 20010426**Also published as:** EP1254671 (A1)  
 US6953482 (B2)  
 US2002161450 (A1)  
 EP1254671 (B1)[Report a data error here](#)**Abstract of JP2002320630**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide equipment for reproducing somatic tissues or organs that replaces conventional tubes for transplanting nerves or blood vessels which can be used in vivo becomes of no foreign substances and vacant space wherein the nerves or blood vessels can easily be inserted in vivo in tubular targets in addition to an efficient and three-dimensional cellular proliferation.

**SOLUTION:** The equipment for reproducing somatic tissues or organs is provided with a retainer (A) composed of biologically decomposable or absorbable materials which consists of sponge-like time matrixes made of biologically decomposable or absorbable materials (B) and linear biological tissues or routes that lead organs (C).

**Fig. 1**

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

**SOMATIC TISSUE OR ORGAN REPRODUCTION EQUIPMENT**

Description of corresponding document:  
**EP1254671**

Translate this text

**Technical Field of the Invention**

[0001] The present invention relates to an instrument for regenerating a living organism tissue/organ. More particularly the present invention relates to an instrument for regenerating a human tissue or organ, for example, a nerve fiber, a micro blood vessel, or the like, which was cut due to lesion or injury.

**Background of the Invention**

[0002] In a case where a human tissue or organ such as a nerve or tendon is injured due to an accident, disaster or disease and the injury cannot be cured by self-recovery of a patient, a disorder occurs in perception, sensation, mobility or the like. For such a patient, with the development of a technology for connecting injured areas under a microscope in recent years, therapeutics such as surgical suturing for connecting cut portions or nerve autotransplantation, by which a nerve or tendon of a patient himself or herself biopsied from another part of the body is transplanted to recover the lost function, has been effective.

[0003] However, when the injured region is too large, restoration by the above-mentioned connection is impossible, and it has been necessary to obtain a nerve from another location where a disorder, if any, could be believed to be less important than the disorder of the injured portion of concern and transplant it to the injured portion. In this case, although it is less important than the disorder at the portion where injury first occurred, the nerve at another location that has received no injury and is healthy is biopsied, resulting in a disorder in perception, sensation or mobility being generated at that location.

[0004] As one example of nerve autotransplantation, there may be mentioned one including, first, a biopsy of a sura nerve and then transplanting of the nerve to an injured location. In this case, the problem is that usually skin sensation, etc. of the area from ankle to instep is lost. Accordingly, there has been a keen demand for a therapeutic method that enables restoration of the injured area without causing any impediment to another area (ankle, etc.).

[0005] To overcome the drawbacks of nerve autotransplantation, various studies have been made with a view to recovery of original functions by substituting an injured area with an artificial instrument. For example, attempts have been made in which a ruptured portion of a nerve is covered by a tubular structure (also called a covering material) made of a nonabsorbable material which is not absorbed by the human body (silicon compounds, fluorine compounds and various synthetic polymers) with the expectation of growth and proliferation of new nerve cells from the cut nerve in the tubular member so that the cut nerve portion can be grafted again. (Ducker et al., Journal of Neurosurgery, 28, 582-587 (1968); Midgler et al., Surgical Forum, 19, 519-528 (1968); Lundborg et al., Journal of Neuropathology in Experimental Neurology, 41, 412-422 (1982); Molander et al., Muscle & Nerve, 5, 54-58 (1982); Uzman et al., Journal of Neuroscience Research, 9, 325-338 (1983); Nyilas et al., Transactions American Society of Artificial Internal Organs, 29, 307-313 (1983); USP4534349, etc.)

[0006] In these experiments, although some cell proliferation is observed at the both ends of the cut nerve, no recovery by grafting of the cut nerve is attained. The reason for this is that when cells proliferate, generally they adhere to the tubular structure. From this position they proliferate in such a direction that they cover the cut portion but mere covering of the cut portion leaves a gap between the cut ends and proliferation of cells is terminated before the cells completely fill the cut portion, so that restoration of the cut gap is not achieved.

[0007] Also, since the implanted tubular structure (also called a covering material) is artificially synthesized, it exists as a foreign matter in the body forever, which is undesirable. Accordingly, to overcome the problem

of the residual foreign matter, there is an example in which such a tubular structure is substituted by a bioabsorbable material (Suzuki et al., *Artificial Organs*, 27(2), 490-494 (1998)). Although use of a bioabsorbable material for the tubular structure solves the problem of residual foreign matter in the body, the problem of the existence of a gap still remains to be solved and it has been difficult to restore the deficit portion by cell proliferation.

[0008] Furthermore, to solve the problem of a gap inside the tubular structure made of a bioabsorbable material, an attempt has been made in which a fiber bundle of collagen is inserted and coated with fibronectin (FN) (Japanese Patent Application Laid-open No. Hei 5-237139, Hiroki Shimada, et al., *Artificial Organ*, 22(2), 359-363, 1993). In this case, although the problem of the residual foreign matter in the body and the problem of the existence of a gap may be solved, the following problems still remain. That is, the collagen fiber bundle is thin and tends to be cut so that it is difficult to handle it and also it is difficult to insert it in a tubular structure such that it fully fills the inside of the tubular structure. If the filling amount of the fiber bundle is decreased in order to facilitate insertion, there occur various defects that the gap between the fibers increases, the fiber bundle cannot be fixed well, localization of the fiber bundle inside the tubular member occurs and so on. Therefore, both cases are undesirable since the gap inside is increased, giving the same results as those of the case where the above-mentioned gap is large.

[0009] Also, in the case where the filling amount of the fiber bundle is increased, other problems remain. That is, when the collagen fiber is filled so that there can occur no localization of the fiber in the inside of the tubular structure, the filling ratio of the lumen of the tubular structure increases but the space for cell proliferation become narrow. Furthermore, in order for cells to efficiently proliferate, nutrients that the cells need must be quickly supplied and waste products generated by metabolism must be quickly removed. However, when the fiber bundle is inserted in a high filling density, exchange of substances is more inhibited closer to the central portion of the fiber bundle, so that it cannot be said that the environment is suitable for cell proliferation and therefore the fiber bundle is not suitable for restoring the nerve by cell proliferation.

[0010] Also, as a means for providing more efficient cell proliferation, a tubular structure encapsulating therein a cell growth factor has been reported (U.S. Patent 4,963,146). In addition, a tubular structure coated on the surface of the lumen with fibrinogen, fibronectin or the like (Non-toxic Nerve Guide Tubes Support Neovascular Growth in Transected Rat Optic Nerve, R. Madison et al., *Experimental Neurology*, 86 (3): 448-461, 1984), a tubular structure filled in the lumen thereof with fiber coated with laminin (Japanese Patent Application Laid-open No. Hei 5-237139, Hiroki Shimada, et al., *Artificial Organ*, 22(2), 359-363, 1993) and the like are known. However, when a growth factor or the like is coated on the surface of the lumen, the surface area is limited and the cell growth factor does not reach cells remote from the coated wall surface since the cells proliferate three-dimensionally. Also, when the cell growth factor is coated on the fiber filling the lumen, although the coating surface area is larger than the surface area of the lumen, the amount of the cell factor with respect to the volume of the lumen decreases because of the volume of the filled fiber.

#### Summary of the Invention

[0011] An object of the present invention is to provide, in place of the conventional tubes for transplanting a nerve or a blood vessel, an instrument for regenerating a living organism tissue or organ which is free of the problem of a residual foreign matter in the body and the problem of a gap and into which the nerve, the blood vessel or the like can be readily inserted to enable cells to efficiently grow three-dimensionally.

[0012] According to the present invention, this object is achieved by an instrument for regenerating a living organism tissue or organ as defined in claim 1 or claim 14. The dependent claims define preferred and advantageous embodiments of the invention.

[0013] In consideration of the above-mentioned circumstances, the present inventors have made extensive studies and as a result they have found that a sponge-like fine matrix in the lumen of a tubular structure made of a bioabsorbable material or biodegradable material and formed so as to have a suitable density to provide a footing for cells to regenerate in a void portion inside the tubular structure can hold various growth factors secreted by surrounding cells or artificially injected due to the characteristics of a porous material possessed by the sponge-like fine matrix and thereby increase proliferation efficiency of various cells, for example, nerve cells. Also, by forming a linear structure for giving directivity to the growth of cells being

regenerated and for guiding the growth of the cells, the time in which cells being regenerated between the deficit tissues or organs are grafted to the target tissue is reduced. As a result an instrument for regenerating a living organism tissue or organ which allows the living organism tissue or organ to quickly regenerate, has high bioabsorbability, and leaves no residual foreign matter in the body has been completed.

#### Description of the Drawings

Fig. 1 is a schematic diagram showing an instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention. In Fig. 1, reference numeral 1 designates a collagen support, reference numeral 2 designates a collagen fiber, and reference numeral 3 designates a collagen sponge layer.

Fig. 2 is a photograph in lieu of a drawing, showing the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of Example 1 of the present invention.

Fig. 3 is a photograph in lieu of a drawing, showing a cross section of the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention.

Fig. 4 is a photograph in lieu of a drawing, showing a transplanted site of the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention.

Fig. 5 is a drawing showing results of a walking function evaluation of the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention.

Fig. 6 is a photograph in lieu of a drawing, showing a stained figure of tissue at the twelfth week at the transplanted portion where the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention is embedded.

Fig. 7 is a photograph in lieu of a drawing, showing a stained figure at the twelfth week of an operated portion of a control instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention.

Fig. 8 is a photograph in lieu of a drawing, showing stained figures of a portion at the twelfth week where the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention is embedded and substituted and of the peripheral side tissue subsequent to the substituted portion.

Fig. 9 is a photograph in lieu of a drawing, showing a portion of a nerve regenerated by the instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to Example 2 of the present invention.

Fig. 10 is an enlarged photograph in lieu of a drawing, showing a cross section of a portion of a nerve regenerated by the instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to Example 2 of the present invention.

Fig. 11 is an enlarged photograph in lieu of a drawing, showing a cross section of a portion of a nerve regenerated by the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention.

#### Detailed Description of the Invention

[0015] In the present invention, examples of the living organism tissue or organ include a blood vessel, trachea, esophagus, intestine, tendon (ligament) and nerve of a human primate, a nonhuman primate or a rodent. The tissue used in the present invention is preferably a human nerve, such as a peripheral nerve or a spinal nerve.

[0016] In the present invention, the support (A) formed from a biodegradable material or a bioabsorbable material means a molded article having a shape of a tubular structure (including a hollow structure), a flat plate, a curved plate and the like, which is selected depending on the living organism tissue or organ to be regenerated. In particular, the tubular structure performs the function of maintaining a space for regenerating a living organism tissue or organ against the permeation of the surrounding tissue.

[0017] The support (A) used in the present invention preferably includes a tubular structure; a stent and the like which have a shape of a tubular structure (including a hollow structure), a plate-like structure, or a gel or the like and is constituted by a fibrous material made of a biodegradable material or a bioabsorbable material. The fibrous material includes, for example, short fibers, long fibers, filaments, a floc, a textile fabric, a non-woven fabric and so forth. The fiber diameter of the fibrous material is about 5 to 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably 10 to 100  $\mu\text{m}$ . In particular, an inter-fiber interval of the support (A) is 0 to 200  $\mu\text{m}$ , preferably 0 to 100  $\mu\text{m}$ .

[0018] The biodegradable material used in the present invention is a material that is decomposed by a decomposing enzyme in a living organism, acid or alkali, characterized by being porous to allow permeation of body fluid. Examples include proteins such as collagen and gelatin, polypeptides, and derivatives thereof.

[0019] Further, the bioabsorbable material is a porous substance which allows permeation of body fluid, for example, a protein or a polypeptide, or a derivative thereof, a polysaccharide or a derivative thereof, polylactic acid, polyglycolic acid, a copolymer of glycolic acid and lactic acid, a copolymer of lactic acid and epsilon-aminocaproic acid, or an aliphatic polyester such as a lactide polymer (Japanese Patent No. 2939750).

[0020] The origin of collagen used in the present invention is not limited and generally its origin includes cows, pigs, birds, fish, primate, rabbits, sheep, rats, humans and so forth. The collagen can be obtained from skin, tendon, bone, cartilage, internal organs or the like by various known extracting methods. However, the origin is not limited to these specific sites. Furthermore, the type of collagen used in the present invention is not limited to a particular classifiable type but in consideration of handling, types I, III and IV are preferable.

[0021] Production of the support (A) from these materials is performed according to a conventional method.

[0022] In the present invention, one auxiliary means for regenerating a living organism tissue or organ is a sponge-like fine matrix (B), which is constituted, for example, by a collagen sponge layer, collagen fiber or the like. The sponge-like fine matrix (B) gives suitable density and footing to cells in the living organism tissue or organ which is to be regenerated in the inside thereof. Also, short fibers, a floc, a non-woven fabric and the like constituted by the collagen fiber are expected to have similar effects.

[0023] Furthermore, another auxiliary means is a linear guide channel (C), which gives directivity of growth to cells being regenerated, to thereby reduce the time needed for grafting of the cells to the target tissue or organ. The guide channel (C) is specifically a tubular structure constituted by a number of long fibers, filaments, fabric, knitted fabric or a hollow tubular structure.

[0024] The hollow tubular structure form of guide channel (C) can be formed by inserting a substrate during molding of the sponge-like matrix (B) and then removing the substrate after the molding.

[0025] A specific example of the instrument for regenerating a living organism tissue/organ of the present invention includes one in which the support (A) is a hollow tubular structure which comprises a biodegradable material or bioabsorbable material and inside the lumen a fine matrix (B) and a linear guide channel (C) are provided as the above-mentioned auxiliary means. The tubular structure (A) is a molded product of a bundle of collagen fibers, provided with a collagen sponge layer (B) inside the tubular structure and a collagen fiber inserted so as to penetrate the sponge layer or a tubular communicating passage (C).

[0026] For example, the instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention has a channel for guiding regeneration of a peripheral nerve or spinal nerve, and comprises a tubular structure (a) constituted by a bundle of collagen fibers with a fiber diameter of about 5 to 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably 10 to 100  $\mu\text{m}$ , having an outer diameter of about 0.1 to 50 mm, preferably 0.5 to 25 mm and an inner diameter of about 0.05 to 40 mm, preferably 0.3 to 20 mm, and provided with a collagen sponge layer (b) on an inner surface thereof, and a collagen fiber inserted so as to penetrate the sponge layer therethrough in the longitudinal direction along the hollow structure or a tubular communicating passage (c).

[0027] In the above-mentioned instrument, the collagen sponge layer (b) has a porosity of about 70 to 99.9%, preferably 80 to 99.9% and may have at least one linear guide channel (c) so as to penetrate therethrough in the longitudinal direction. The linear guide channel (c) comprises collagen fiber or a tubular communicating passage. In the case of collagen fiber, it has a diameter of about 5 to 1,000  $\mu\text{m}$ , preferably 10 to 100  $\mu\text{m}$  and an insertion amount corresponding to 5 to 70%, preferably 10 to 60% with respect to the inner volume of the tubular structure (a). In the case of the tubular communicating passage (c), it has a diameter of about 5 to 1000  $\mu\text{m}$ , preferably 10 to 100  $\mu\text{m}$  and a volume occupying in a ratio of 5 to 70%, preferably 10 to 60%, with respect to the inner volume of the tubular structure (a).

[0028] One embodiment of the present invention is an instrument for regenerating a living organism tissue or organ, which has a tubular structure (a) constituted by a bundle of collagen fibers with a fiber diameter of about 10 to 100  $\mu\text{m}$ , and having an outer diameter of about 0.5 to 20 mm and an inner diameter of about 0.3 to 15 mm, and which has a collagen sponge fine layer (b) with a porosity of about 70 to 99.9% inside the tubular structure, and which has at least one linear structure (c) provided so as to penetrate the sponge layer (b) therethrough inside the tubular structure (a) in the longitudinal direction.

[0029] Another embodiment of the present invention is an instrument for regenerating a living organism tissue or organ having a channel for guiding the regeneration of a peripheral nerve or spinal nerve, which has a tubular structure (a') constituted by a bundle of collagen fibers with a fiber diameter of about 10 to 100  $\mu\text{m}$ , and having an outer diameter of about 0.5 to 20 mm and an inner diameter of about 0.3 to 10 mm, a collagen sponge layer (b') with a porosity of about 70 to 99.9% inside the tubular structure, and as a linear guide channel (c'), collagen fiber with a diameter of 5 to 1,000  $\mu\text{m}$  in an amount corresponding to 5 to 70% of the volume of the lumen portion or a tubular structure with a diameter of 5 to 1,000  $\mu\text{m}$  in a volume of 5 to 70% of the lumen portion, inserted or formed, respectively, so as to penetrate the sponge layer therethrough.

[0030] Furthermore, an embodiment of the present invention is an instrument for regenerating a living organism tissue or organ having a channel for guiding regeneration of a peripheral nerve or a spinal nerve, and which has a tubular structure(a'') constituted by a bundle of collagen fibers with a fiber diameter of about 10 to 100  $\mu\text{m}$ , and having an outer diameter of about 0.5 to 20 mm and an inner diameter of about 0.3 to 10 mm, and which has a collagen sponge layer (b'') with a porosity of about 70 to 99.9% inside the tubular structure, and, as a linear guide channel (c''), collagen fiber with a diameter of 10 to 100  $\mu\text{m}$  in an amount corresponding to 10 to 60% of the volume of the lumen portion or a tubular structure with a diameter of 10 to 1,000  $\mu\text{m}$  in a volume of 10 to 60% of the lumen portion, inserted or formed, respectively, so as to penetrate the sponge layer therethrough.

[0031] The instrument of the present invention preferably has an opening space for inserting a nerve on both ends of the tubular structure.

[0032] A method for producing the instrument of the present invention is described in detail below.

[0033] First, a fibrous material, for example, short fibers, long fibers, filaments, a floc, a textile fabric, a non-woven fabric or the like is produced from a solution of a biodegradable material or a bioabsorbable material, for example, collagen, according to a conventional method and then a tubular structure is produced from the fibrous material.

[0034] The solvent for dissolving the collagen may be any known substance but use of water according to a conventional method is preferred. The concentration of the collagen solution is 0.1 to 30 wt%, preferably 0.5 to 10 wt%.

[0035] The extrusion molding method for producing a collagen fiber is not particularly limited but usually the coagulating liquid is ethyl alcohol and the extrusion rate is about 100 to 500 mm/sec. Cooling of the fiber taken out from the coagulating liquid may be performed in the neighborhood of the degeneration temperature of collagen or less, i.e. at about 40 DEG C or less, but preferably is maintained at 4 to 20 DEG C. The diameter of the fiber is preferably about 10 to 100  $\mu\text{m}$ .

[0036] To produce the support (A), for example, a tubular structure (including a hollow structure) from the above-mentioned fibrous material, a continuous fiber produced from a collagen solution can be wound around a rod-like substrate having a predetermined length to obtain a continuous fiber bundle having a uniform fiber direction. By removing the rod-like substrate, the fiber bundle forms a hollow tubular structure. In the case where the tubular structure is used for restoring or regenerating a nerve such as a peripheral nerve or a spinal nerve, the tubular structure preferably has a suitable wall thickness of about 0.1 to 5 mm, an outer diameter of about 0.3 to 20 mm, an inner (lumen) diameter of about 0.1 to 10 mm and any desired length. The diameter of the lumen portion depends on the diameter of the nerve to be grafted but in particular a range of from about 0.5 to 10 mm is suitable.

[0037] To provide the auxiliary means for regenerating a living organism tissue or organ in the lumen portion of the tubular structure serving as the support (A), the following method may be used. For example, a sponge-like fine matrix (B) filled in the inner (lumen) portion of the tubular structure is produced by injecting a collagen solution in the lumen portion of the support and subjecting it to natural drying, vacuum

drying, vacuum lyophilization or a like method. In order to form uniform sponge-like fine matrix (B), it is preferable to form it by a vacuum lyophilization method in which the matrix is frozen after filling the collagen solution in the lumen portion of the support and dried under vacuum. The concentration of the collagen solution is 0.05 to 30%. The drying condition is preferably the maintaining of a vacuum of about 0.08 Torr or less after the collagen solution is frozen.

[0038] The sponge-like fine matrix (B) means a state where there is formed a porous material having many domains with vacant spaces of a uniform or non-uniform size dispersed continuously or discontinuously when visually judged or observed under a microscope.

[0039] The matrix of a sponge layer formed in the lumen is produced by varying the concentration of the collagen solution used and filling a solution having a higher collagen concentration and a decreasing collagen concentration in sequence. By adjusting the concentration of the collagen solution to be filled, a matrix having layers with different vacant spaces can be obtained and various forms of a matrix depending on the utility can be formed.

[0040] When expressing the ratio of the weight of the collagen filled in the lumen to the volume of the lumen of the tubular structure as a filling ratio, the filling ratio is preferably about 0.05 to 30% and, more preferably, the filling ratio is about 0.5 to 15%.

[0041] The instrument for regenerating a living organism tissue or organ of the present invention is sutured to an injured tissue or organ in the living organism by a conventional method and is left in the living organism until it recovers naturally. Suturing means in which a predetermined tissue is sutured with an instrument by an ordinary suture are employed.

[0042] In the case of a cut nerve, regeneration of the nerve is observed by merely suturing the nerve ends at the ends of the tubular structure (A) at plural points.

[0043] Hereinafter, the present invention will be illustrated in detail by way of examples. However, the present invention is not limited thereto.

#### Example 1 Production of an instrument for regenerating a living organism tissue or organ

[0044] Enzyme-solubilized collagen (a mixture of collagen type I and type III) was dissolved in water to prepare an aqueous 5% solution and extruded in a coagulating liquid according to a conventional method to produce a collagen fiber having a diameter of 50  $\mu$ m. The collagen fiber obtained was wound around a metal mandrel to produce a tubular structure constituted by the collagen and having an inner diameter of 1 mm and a thickness of 0.5 mm. In its lumen, 200 collagen fibers having a diameter of 50  $\mu$ m were simultaneously inserted together with the aqueous 5% collagen solution and rapidly frozen and then lyophilization was performed in vacuo to produce a tubular instrument for regenerating a living organism tissue or organ entirely constituted by the collagen and of a structure such that it has a collagen fiber filling ratio of 50% in the lumen portion and a collagen-made porous material having a porosity of 95% covers each fiber. Fig. 1 is a partial cross sectional view showing the above-mentioned instrument for regeneration. Fig. 2 is a side view of the instrument. Fig. 3 is an enlarged view of the instrument. In Fig. 1, reference numeral 1 designates the collagen support, reference numeral 2 designates the collagen fiber, and reference numeral 3 designates the collagen sponge layer.

#### Test for tissue regeneration

[0045] Using the produced instrument for regeneration, a test for tissue regeneration was performed on rats. As the tissue to be regenerated, a rat peripheral nerve was selected.

[0046] The rat fibula nerve was cut to make a 10-mm deficit portion. In this site the tubular collagen-made instrument for regeneration of organ previously cut to 10 mm, i.e., the same length as the deficit length, and subjected to 25-kGy gamma-ray sterilization treatment was inserted and the both ends thereof were sutured and fixed to the cut ends of the nerve with 10-0 polyamide based surgical suture at plural points (Fig. 4). Also, as a control group, a 10-mm deficit portion was made in another rat group similarly in the

fibula nerve portion and the wound site was sutured with the surgical suture.

#### Experimental results

[0047] After the transplantation, a footprint evaluation for evaluating the recovery of the nerve with a lapse of time and an observation of nerve fiber regeneration on the twelfth week by cutting out the tissue at the transplanted site and performing an immunological tissue staining of protein gene product 9.5 (PGP 9.5) were carried out.

[0048] The evaluation method for the footprint was performed by a WTA method (walking tracks analysis). That is, in a case where the fibula nerve was cut, the rat cannot walk on its tiptoes so that when the footprint is recorded, the footprint on the side where the nerve was cut is longer than the footprint on the side where the nerve is normal. On the other hand, assuming that the length of the footprint on the normal side is X and the length of the footprint on the side of the paralyzed nerve is Y, a WTA value was obtained according to the formula  $[WTA \text{ value} = (Y-X)/Y]$  and the recovery of walking function with a lapse of time was evaluated. The results are shown in Fig. 5.

[0049] As is apparent from Fig. 5, in the group of rats using the instrument for regenerating a tissue of the present invention, WTA value decreased rapidly toward the second or third weeks when taking the WTA value on the first week as 100. In contrast, in the group using no such instrument, almost no tendency of recovery was observed. That is, in the group using the instrument for regenerating a tissue, it was confirmed that the animal was being rapidly able to walk on tiptoe on the foot on the side of the cut nerve, which indicates recovery of the nerve.

[0050] Then, nerve fiber regeneration was observed by cutting out the tissue at the site transplanted at the twelfth week from rats of both groups and performing an immunological tissue staining. The results are shown in Figs. 6 and 7. As is apparent from Fig. 6, in the group using the instrument for regenerating a tissue, the nerve regenerated in the form of fiber was stained and it was observed that the cut nerve was efficiently regenerated in the inside of the instrument for regenerating a tissue. In contrast, as is apparent from Fig. 7, in the group using no instrument for regenerating a tissue, it was observed that no regeneration of the fibrous nerve by invasion of a surrounding fibrous tissue occurred.

[0051] Fig. 8 is a diagram showing the results of staining the tissue on the peripheral side of the portion transplanted where the instrument for regenerating a tissue was embedded. In Fig. 8, the state of nerve fiber regeneration in the direction toward the peripheral side by use of the instrument for regenerating a tissue was observed in the portion on the right hand side of line A-A.

#### Example 2 Tissue regeneration experiment on a beagle

[0052] Using the regeneration instrument produced in Example 1, a tissue regeneration experiment on a beagle was conducted to confirm the regeneration of tissue under conditions most close to that of humans. As for the tissue to be regenerated, a beagle peripheral nerve was selected.

[0053] The beagle fibular nerve was cut to make a 35mm deficit portion. In this site the tubular collagen-made instrument for regenerating an organ mentioned above previously cut to 35 mm, i.e., the same length as the deficit portion length and subjected to 25-kGy gamma -ray sterilization treatment was inserted and both ends thereof were sutured and fixed to the cut ends of the nerve with 8-0 polyamide based surgical suture at plural points.

#### Experimental results

[0054] After the entesis, an observation of nerve fiber regeneration was carried out by cutting out the tissue from the entesis site at the time of the fifth week and performing an immunological tissue staining of protein gene product 9.5 (PGP 9.5)



[0055] An observation of nerve fiber regeneration was carried out by cutting out the nerve cut site from the beagle at the time of the fifth week after the experiment and performing an immunological tissue staining. The results obtained are shown in Figs. 9, 10 and 11.

[0056] Fig. 9 is a view showing results of regeneration obtained by embedding the instrument for regenerating a tissue which is taken out on the fifth week. Fig. 10 is a photograph showing a stained cross section of a central portion of a peripheral nerve portion, with the portion extending from the line A-A' towards the direction indicated by the arrow being a peripheral nerve tissue portion regenerated by the instrument for regenerating a tissue which was embedded thereon. Fig. 11 is a photograph showing a stained cross section of a peripheral portion of a peripheral nerve portion, with the portion extending from the line B-B' towards the direction indicated by the arrow being a peripheral nerve tissue portion regenerated by the instrument for regenerating a tissue which was embedded thereon.

[0057] As is apparent from Fig. 10, the nerve regenerated in the form of a fiber has been stained and it can be observed that the cut nerve was efficiently regenerated in the inside of the instrument for regenerating a tissue on the side extending from the line A-A' towards the direction indicated by the arrow.

[0058] Further, Fig. 11 is a view showing the results obtained by staining the tissue on the peripheral end side of the connecting end part of the enthetic portion where the instrument for regenerating a tissue was embedded. In Fig. 11 the regenerated nerve tissue was also observed in the portion on the right hand side of the line B-B'. From this, the state of regeneration of the nerve tissue can be observed, in which the regenerated nerve tissue in the inside of the instrument for regenerating a tissue or organs being regenerated towards the peripheral side from the instrument for regenerating a tissue.

#### Effects of the Invention

[0059] The instrument for regenerating a living tissue or organ of the present invention can regenerate and restore the target tissue or organ quickly and with certainty. In the case where the entire substance that constitutes the instrument for regeneration is constituted by collagen, it exerts excellent effects in that it exhibits good biocompatibility and after restoring the tissue, it is absorbed by the living organism leaving no residual foreign matter since it is made of a bioabsorbable material.

[0060] In the examples of the present invention, the instrument for regenerating a tissue of the invention is used for regenerating a peripheral nerve, but the instrument is also useful in the case where various tissues or organs such as a central nerve system, a ligament and a tendon are regenerated. By use of the instrument of the present invention, the structure of the fibrous material inside the instrument gives a footing of growth and directivity of growth to the cells being regenerated, thereby enabling the regeneration in a short period of time.

[0061] Therefore, the present invention exhibits excellent effects not only in regenerating nerve but also in regenerating other tissues or organs.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

**SOMATIC TISSUE OR ORGAN REPRODUCTION EQUIPMENT**

Claims of corresponding document: EP1254671

Translate this text

1. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ, comprising a support (1) formed from a biodegradable material or a bioabsorbable material, and inside said support (1) a sponge-like fine matrix (3) formed from a biodegradable material or a bioabsorbable material and a linear channel (2) for guiding a living organism tissue or organ.
2. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to claim 1, wherein the biodegradable material is decomposed by a decomposing enzyme in the living organism, an acid or an alkali, and is a protein, a polypeptide or a derivative thereof.
3. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to claim 1 or claim 2, wherein each of the bioabsorbable materials is a porous substance which allows permeation of body fluid and is a protein, a polypeptide, or a derivative thereof, a polysaccharide or a derivative thereof, polylactic acid, polyglycolic acid, a copolymer of glycolic acid and lactic acid, a copolymer of lactic acid and epsilon -amino-caproic acid or an aliphatic polyester.
4. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-3, wherein the support (1) formed from the biodegradable material or the bioabsorbable material is tubular.
5. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-4, wherein the support (1) formed from the biodegradable material or the bioabsorbable material is constituted by a fibrous material.
6. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to claim 5, wherein the fibrous material comprises short fibers, long fibers, filaments, a floc, a textile fabric, or a non-woven fabric.
7. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-6, wherein the sponge-like fine matrix (3) is a collagen sponge layer.
8. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-7, wherein the linear channel (2) for guiding the living organism tissue or organ comprises at least one fiber inserted into the inside of the support (1) in the longitudinal direction thereof.
9. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-8, wherein the linear channel (2) for guiding the living organism tissue or organ is at least one tubular structure and is formed in the inside of the support (1) in the longitudinal direction thereof.
10. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-9, wherein the linear channel (2) for guiding the living organism tissue or organ is embedded in the sponge-like fine matrix (3).
11. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-10, wherein the support (1) is a tubular structure comprising a bundle of collagen fibers, and the sponge-like fine matrix (3) is a collagen sponge layer provided in the inside of the tubular structure, and the linear channel (2) for guiding the living organism tissue or organ is a fiber or a tubular structure penetrating the collagen sponge layer therethrough.
12. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-11, wherein the instrument is arranged for regenerating the living organism tissue or organ which is a blood vessel, a trachea, an esophagus, an intestine, a tendon, a ligament or a nerve of a human primate, a nonhuman primate or a rodent.
13. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 1-12, wherein the linear channel (2) for guiding a living organism tissue or organ is a channel for guiding regeneration of a peripheral or spinal nerve.

14. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ, which comprises at least one linear structure (2) provided so as to penetrate a sponge layer (3) therethrough in a longitudinal direction in the inside of a tubular structure (1), wherein the tubular structure (1) is formed by a bundle of collagen fibers having a fiber diameter of about 5 to 1000  $\mu\text{m}$ , and has an outer diameter of about 0,1 to 50 mm, and an inner diameter of about 0,05 to 40 mm, and the sponge layer (3) is a fine collagen sponge layer having a porosity of about 70 to 99.9% located inside the tubular structure (1).

15. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to claim 14, wherein the linear structure (2) is formed from at least one collagen fiber having a fiber diameter of about 5 to 1000  $\mu\text{m}$ .

16. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to claim 14 or claim 15, wherein the linear structure (2) is provided with at least one tubular communicating passage having a pore diameter of about 5 to 1000  $\mu\text{m}$ .

17. An instrument for regenerating a living organism tissue or organ according to any one of claims 14-16, wherein the at least one linear structure (2) is a channel for guiding regeneration of a peripheral or spinal nerve.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide